目次

2.4 非臨床試験の概括評価 2
2.4.1 非臨床試験の概括評価 4
2.4.2 薬理試験 5
2.4.3 薬物動態試験 8
2.4.4 毒性試験 11
2.4.5 総括及び結論 17
2.4.6 参考文献一覧 18

表

表 2.4- 1 略号及び用語の定義一覧 2

2.4　非臨床試験の概括評価

本項で使用した略号及び用語の定義一覧を表 2.4- 1 に示す。

表 2.4- 1　略号及び用語の定義一覧

略号及び用語	定義
A/G 比	Albumin/globulin ratio（アルブミン／グロブリン比）
AKT	AKT tyrosine kinase（AKT キナーゼ）
ALK	Anaplastic lymphoma kinase（未分化リンパ腫キナーゼ）
ALP	Alkaline phosphatase（アルカリフォスファターゼ）
ALT	Alanine aminotransferase（アラニンアミノトランスフェラーゼ）
Amax	Action-potential amplitude（活動電位最大振幅）
AML	Acute myeloid leukemia（急性骨髄性白血病）
APD_{30}	Action potential duration at 30% repolarization（30%再分極時の活動電位の持続時間）
APD_{50}	Action potential duration at 50% repolarization（50%再分極時の活動電位の持続時間）
APD_{90}	Action potential duration at 90% repolarization（90%再分極時の活動電位の持続時間）
AST	Aspartate aminotransferase（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）
AUC_{24h}	Area under the concentration versus time curve from time zero to 24 hours after dosing（投与後時間 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積）
AUC_{inf}	Area under the concentration versus time curve from time zero to infinity after dosing（投与後時間 0 から無限時間まで外挿した濃度－時間曲線下面積）
AXL	AXL tyrosine kinase（AXL キナーゼ）
BA	Absolute bioavailability（絶対バイオアベイラビリティ）
Balb/c 3T3 細胞	Balb/c マウス線維芽細胞
$Ca_V1.2$	$Ca_V1.2$ カルシウムチャネル
C_b/C_p	Blood-to-plasma radioactivity concentration ratio（血漿に対する血液中放射能濃度比）
C_{max}	Maximum concentration（最高濃度）
ERK	Extracellular signal-regulated kinase（細胞外シグナル制御キナーゼ）
EML4	Echinoderm microtubule-associated protein-like 4（棘皮動物微小管結合蛋白質様 4）
FLT3	FMS-like tyrosine kinase 3（Fms 様チロシンキナーゼ 3）
FLT3-D835Y	835 番目のアミノ酸残基であるアスパラギン酸がチロシンに置換された FLT3
FLT3-ITD	FLT3-Internal tandem duplication（FLT3 遺伝子内縦列重複）
FLT3-ITD-D835Y	FLT3 の ITD 変異及び 835 番目のアミノ酸残基であるアスパラギン酸のチロシンへの置換
GLP	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
HEK293 細胞	ヒト胎児腎臓由来 293 細胞
hERG	Human *ether-a-go-go*-related gene（ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子）
IC_{50}	Concentration with 50% inhibition（50%阻害濃度）
ICH-S9	抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン
ITD	Internal tandem duplication（遺伝子内縦列重複）
KIT	KIT tyrosine kinase（KIT キナーゼ）
$K_V7.1$/minK	$K_V7.1$/minK カリウムチャネル
LTK	Leukocyte tyrosine kinase（白血球チロシンキナーゼ）
NPM1	Nucleophosmin 1（ヌクレオフォスミン 1）
NSCLC	Non-small cell lung cancer（非小細胞肺癌）
RMP	Resting membrane potential（静止膜電位）
S9	代謝活性化系

略号及び用語	定義
SD	Sprague Dawley（スプラーグ・ドーリー）
STAT5	Signal transducer and activator of transcription 5（シグナル伝達性転写因子 5）
STV	Short term variability for APD_{90}（APD_{90} の短期的ばらつき）
$t_{1/2}$	Elimination half-life（消失半減期）

2.4.1　非臨床試験の概括評価

急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia：AML）は，悪性化した骨髄前駆細胞の異常分化と増殖を特徴とする血液疾患である。米国内において，白血病と診断される患者の 90%超は 20 歳以上の成人であり，最も多い型は慢性リンパ性白血病（35%）と AML（32%）である［American Cancer Society, 2014］。2014 年の AML の診断は 18860 件（男性 11530 件，女性 7330 件），AML による死亡は 10460 例に上ると推定された［American Cancer Society, 2014］。本邦においては，AML と診断された患者は年間約 5500 例に上ると推定される［Kantar Health, 2015］。AML 患者では標準療法によって完全寛解に至る場合があるが，その後の再発がしばしば見られる［Tallman, 2005］。

Fms 様チロシンキナーゼ 3（FMS-like tyrosine kinase 3：FLT3）は主に造血前駆細胞の細胞膜上に発現している受容体型チロシンキナーゼであり，多能性幹細胞の増殖，生存及び分化に重要な役割を果たしている。AML 患者では，FLT3 の過剰発現が多くの症例で報告されており，また FLT3 の活性化変異も高頻度に認められる［Birg et al, 1992］。代表的な活性化変異は膜近傍領域の遺伝子内縦列重複（internal tandem duplication：ITD）変異及びキナーゼ領域 D835（835 番目のアミノ酸であるアスパラギン酸残基）の点変異であり，その発現頻度はそれぞれ AML 患者の 28%～34%，及び 11%～14%である［Schlenk and Döhner, 2009］。FLT3 が活性化変異した細胞はがん細胞となる性質を持つようになり，形質転換活性を有する［Yamamoto et al, 2001］。また，FLT3 が活性化されている AML 患者は，再発率が高く，再発までの期間が短く，かつ無病生存率及び全生存率が低い［Patel et al, 2012; Gale et al, 2008; Yanada et al, 2005; Moreno et al, 2003］。

ギルテリチニブフマル酸塩は，アステラス製薬株式会社が寿製薬株式会社と共同で見いだした FLT3 チロシンキナーゼ阻害薬である。今回の申請にあたり，本薬の薬理学的，薬物動態学的及び毒性学的特性を明らかにする目的で各種試験を実施した。

効力を裏付ける試験として，FLT3 キナーゼ阻害作用，変異型 FLT3 を発現させた Ba/F3 細胞株及び FLT3-ITD を発現するヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞に対する増殖阻害作用及び FLT3 リン酸化阻害作用，MV4-11 細胞皮下異種移植マウス担癌モデルにおける抗腫瘍作用、MV4-11 細胞骨髄異種移植マウス担癌モデルにおける腫瘍増殖抑制作用及び延命作用を検討した。

安全性薬理試験としてコアバッテリー試験及びフォローアップ試験を実施した。ヒト標本を使用したフォローアップ試験を除き，いずれの試験も「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice：GLP）」適合試験として「安全性薬理試験ガイドライン」に準拠して実施した。

本薬の吸収，分布，代謝及び排泄の特徴を明らかにするために，放射性標識体及び非標識体を使用して，マウス，ラット，ウサギ，イヌ及びカニクイザルにおいて一連の in vitro 又は in vivo 試験を実施した。これらの試験で使用された動物種は，薬理及び毒性試験で使用されたものを含み，投与経路は毒性試験と同様に臨床での投与経路である経口投与を主体とした。一部試験においては，薬物動態の検討に主眼をおいて投与経路及び投与量を適宜選択した。ラット及びイヌにおいて，本薬を静脈内及び経口投与したときの血漿中ギルテリチニブ濃度を測定し，絶対バイオ

アベイラビリティ（BA）及び薬物動態の投与量依存性を検討した。また，^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩をラットに単回及び反復経口投与したときの放射能の組織分布や，各動物種での血漿蛋白結合率，ラット及びイヌに経口投与したときの放射能の尿・胆汁中及び糞中への排泄を検討することにより，本薬由来成分の体内動態を明らかにした。更に，動物及びヒトの試料を用いた種々の in vitro 代謝試験並びにラット，イヌ及びヒトの in vivo 代謝物プロファイリング試験を実施した。

本薬の非臨床における安全性については，ラットを用いた単回投与毒性試験，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験（ラットは 13 週間投与，イヌは 4 及び 13 週間投与），細菌，ほ乳類培養細胞及びマウスを用いた遺伝毒性試験，ラットを用いた生殖発生毒性試験並びにその他の毒性試験（ラットを用いた不純物の反復投与毒性試験，細菌及びほ乳類培養細胞を用いた不純物の遺伝毒性試験並びにほ乳類培養細胞を用いた光毒性試験）により評価した。全ての重要な毒性試験は，GLP 適合試験として「医薬品毒性試験法ガイドライン」あるいは日米 EU 医薬品規制調和国際会議ガイドラインに準拠して実施した。また，ほ乳類培養細胞を用いた光毒性試験（GLP 非適合）は経済協力開発機構ガイドラインに準拠して実施した。

本資料中の被験物質の投与量，血漿中未変化体濃度及び処置濃度は，ギルテリチニブ換算値で表記した。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

各種チロシンキナーゼに対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害作用

ギルテリチニブフマル酸塩は，1 及び 5 nmol/L で FLT3，ヌクレオフォスミン 1（nucleophosmin 1：NPM1）-未分化リンパ腫キナーゼ（anaplastic lymphoma kinase：ALK）融合キナーゼ，白血球チロシンキナーゼ（leukocyte tyrosine kinase : LTK），ALK 及び AXL キナーゼ（AXL tyrosine kinase : AXL）の活性を 50%以上阻害した。FLT3，LTK，AXL，棘皮動物微小管結合蛋白質様 4（echinoderm microtubule-associated protein-like 4：EML4）-ALK バリアント 1 融合キナーゼ及び KIT キナーゼ（KIT tyrosine kinase : KIT）の活性に対する 50%阻害濃度（concentration with 50% inhibition : IC_{50} 値）は，それぞれ 0.291，0.350，0.726，1.2 及び 229 nmol/L であった。

変異型 FLT3 を発現させた Ba/F3 細胞株に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用

ギルテリチニブフマル酸塩は，FLT3-ITD，835 番目のアミノ酸残基が置換された FLT3（FLT3-D835Y）又はそのいずれも併せ持つ FLT3（FLT3-ITD-D835Y）を発現させた Ba/F3 細胞の増殖を阻害し，その IC_{50} 値はそれぞれ 1.8，1.6 及び 2.1 nmol/L であった。これらの細胞においてギルテリチニブフマル酸塩の処理により FLT3 のリン酸化が抑制された。また、FLT3 のシグナル伝達系の下流にあるシグナル伝達性転写因子 5（signal transducer and activator of transcription 5：

STAT5），AKT キナーゼ（AKT tyrosine kinase : AKT）及び細胞外シグナル制御キナーゼ（extracellular signal-regulated kinase：ERK）のリン酸化も抑制された。

ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用

ギルテリチニブフマル酸塩は，FLT3-ITD を発現するヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞の増殖を阻害し，その IC_{50} 値は 0.92 nmol/L であった。ギルテリチニブフマル酸塩で処置した MV4-11 細胞において，FLT3 のリン酸化が抑制された。また，この細胞において FLT3 シグナル伝達系の下流にある STAT5，AKT，ERK のリン酸化も阻害された。ギルテリチニブフマル酸塩は，3 及び 10 nmol/L で G1 期細胞の割合を有意に増加させたことから，MV4-11 細胞の細胞周期を停止させることが示唆された。また，ギルテリチニブフマル酸塩は 3，10 及び 30 nmol/L で MV4-11 細胞におけるアネキシン V 陽性細胞の割合を有意に増加させたことから，MV4-11 細胞のアポトーシスを誘導することが示された。

ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞皮下移植担癌マウスにおけるギルテリチニブフマル酸塩の作用

MV4-11 細胞皮下移植担癌マウスにギルテリチニブフマル酸塩を 28 日間反復経口投与した。その結果，ギルテリチニブフマル酸塩は MV4-11 腫瘍の増殖を有意に阻害し，腫瘍退縮を誘導した。特に，6 及び 10 mg/kg/日投与群において，6 匹中それぞれ 4 匹及び 6 匹で腫瘍の完全退縮が認められた。いずれの用量においてもマウスの体重に対する影響は認められなかった。また，同担癌マウスにギルテリチニブフマル酸塩を単回経口投与したところ，1，3，6 及び 10 mg/kg/日投与群において腫瘍における FLT3 及び STAT5 のリン酸化が抑制された。

ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植担癌マウスにおけるギルテリチニブフマル酸塩の腫瘍増殖抑制作用及び延命作用

ルシフェラーゼ発現ベクターを組み込んだ MV4-11 細胞を脛骨骨髄内に移植した担癌マウスにギルテリチニブフマル酸塩 30 mg/kg/日を移植後 15 日目から 70 日目まで反復経口投与した。その結果，ギルテリチニブフマル酸塩投与群で腫瘍増殖が抑制された。また，対照群の生存期間中央値は 61.5 日であったのに対し，ギルテリチニブフマル酸塩投与群では 168 日目までの観察期間中に死亡例は確認されなかった。

ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞皮下移植マウスにおけるギルテリチニブフマル酸塩単回投与後の血漿中ギルテリチニブ濃度及び腫瘍内ギルテリチニブ濃度の経時変化

MV4-11 細胞を皮下に異種移植したマウスにギルテリチニブフマル酸塩 1，6 又は 10 mg/kg を単回経口投与した後の血漿中ギルテリチニブ濃度，腫瘍内ギルテリチニブ濃度の経時変化を検討した。ギルテリチニブの血漿中濃度はいずれの用量においても投与後 2 時間で最大に達し，腫瘍内濃度は 1，6 又は 10 mg/kg 投与群において投与後それぞれ 4，8 又は 8 時間で最大に達した。

2.4.2.2　副次的薬理試験

EML4-ALK 変異体を発現させた 3T3 細胞（マウスの皮膚に由来する繊維芽細胞培養細胞株）及び NCI-H2228 細胞（ヒト非小細胞肺癌［non-small cell lung cancer：NSCLC］細胞株）に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用

ギルテリチニブフマル酸塩は，EML4-ALK バリアント 1，2 又は 3 融合タンパク質を発現させた 3T3 細胞の増殖を阻害し，その IC_{50} 値はそれぞれ 0.42，0.50 及び 0.95 nmol/L であった。また，EML4-ALK バリアント 3 融合タンパク質を内在するヒト NSCLC 細胞である NCI-H2228 細胞の増殖を阻害し，その IC_{50} 値は 0.74 nmol/L であった。ギルテリチニブフマル酸塩で処置した NCI-H2228 細胞で ALK のリン酸化が抑制された。

各種受容体，イオンチャネル及びトランスポーターに対する親和性並びに酵素反応に対する作用

ギルテリチニブフマル酸塩は，アデノシン A_1 受容体（ラット），セロトニン $5HT_1$ 受容体（非選択的，ラット），セロトニン $5HT_{2B}$ 受容体（ヒト）及びシグマ受容体（非選択的，モルモット）に対する放射性リガンドの特異的結合を阻害し，その IC_{50} 値はそれぞれ 4.57，4.90，0.190 及び 0.615 μmol/L であった。ギルテリチニブフマル酸塩は，細胞機能アッセイにおいてヒト $5HT_{2B}$ 受容体の機能を阻害し，IC_{50} 値は 5.82 μmol/L であったが，アゴニスト活性を示さなかった。

2.4.2.3　安全性薬理試験

コアバッテリー試験として，中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対する作用を検討した。スプラーグ・ドーリー（Sprague Dawley：SD）系ラットに本薬（10～100 mg/kg）を単回経口投与した際の一般症状及び行動に及ぼす影響を Irwin の変法に従って検討したところ，30 mg/kg 以上の投与量で排尿した動物数の減少，100 mg/kg では更に排便した動物数の減少が認められた（2.6.2.4.1.1 中枢神経系に及ぼす影響）。これらの所見は，追加試験により，可逆的なものであることが確認された（2.6.2.4.1.1 中枢神経系に及ぼす影響）。In vitro 電気生理学的試験において，本薬（1～30 μmol/L）はヒト胎児腎臓由来 293 細胞（HEK293 細胞）におけるヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子（human *ether-a-go-go*-related gene：hERG）チャネルを介するカリウム電流を濃度依存的に抑制し，IC_{50} 値は 16 μmol/L（8.84 μg/mL）であった（2.6.2.4.1.2.1 hERG チャネルに対する作用）。また，無麻酔ビーグル犬に本薬（1～100 mg/kg）を単回経口投与した際の心血管系及び呼吸系に及ぼす影響についてテレメトリーを用いて検討した結果，体温，血圧，心拍数，心電図，呼吸数及び血液ガスには影響は認められなかったが，3 mg/kg で空吐，10 mg/kg より嘔吐及び便潜血反応陽性，30 mg/kg では血中カルシウム濃度の減少，100 mg/kg では流涎及び血中カルシウム濃度の増加及び減少がそれぞれ認められた（2.6.2.4.1.2.2 無麻酔ビーグル犬における心血管系及び呼吸系に対する作用）。

フォローアップ試験として，心血管系に対する作用を検討した。本薬（0.1～10 μmol/L）の心筋イオンチャネルに及ぼす影響をヒト由来の各種心筋チャネル（$Na_V1.5$ ナトリウムチャネル，$Ca_V1.2$ カルシウムチャネル［$Ca_V1.2$］，$K_V7.1$/minK カリウムチャネル［$K_V7.1$/minK］，$K_V4.3$ カリウムチャ

ネル及び $K_{ir}2.1$ カリウムチャネル）を発現させた HEK293 細胞あるいはチャイニーズハムスター卵巣由来細胞を用いて検討したところ，本薬は 1 μmol/L（553 ng/mL）以上の濃度で $Ca_V1.2$ 及び $K_V7.1$/minK を介した電流を増加させた（2.6.2.4.2.1.1 心筋イオンチャネルに対する作用）。また，本薬（0.1～10 μmol/L）の hERG trafficking に及ぼす影響を hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用いて検討したところ，10 μmol/L（5.53 μg/mL）の濃度まで hERG trafficking に影響を及ぼさなかった（2.6.2.4.2.1.2 hERG Trafficking に対する作用）。さらに参考情報であるが，脳死した健康成人男性ドナーの心室プルキンエ線維標本を用いた微小電極法により，本薬（0.05570～4.245 μmol/L）の静止膜電位（resting membrane potential : RMP），活動電位最大振幅（action-potential amplitude：Amax），30%，50%及び 90%再分極時の活動電位の持続時間（action potential duration at 30%, 50%, and 90% repolarization：APD_{30}，APD_{50} 及び APD_{90}），第 3 相における三角形化（90%再分極時の活動電位持続時間と 30%再分極時の活動電位持続時間の差）及び APD_{90} の短期的ばらつき（short term variability for APD_{90}：STV）に対する影響を検討したところ，本薬は 4.245 μmol/L（2346 ng/mL）の濃度までいずれのパラメータにも影響を及ぼさなかった（2.6.2.4.2.1.3 ヒト心筋活動電位に対する作用）。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

^{14}C で標識したギルテリチニブフマル酸塩（^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩）投与時の生体試料中の放射能濃度は，試料に直接又は組織溶解剤処理したものに液体シンチレーターを加え，液体シンチレーションカウンターで測定した。

マウス，ラット，ウサギ及びイヌにおける血漿中ギルテリチニブ濃度は，種々の項目についてバリデートされた液体クロマトグラフィーータンデムマススペクトロメトリーにより測定した。

2.4.3.2 吸収

ギルテリチニブフマル酸塩の薬物動態学的特性をラット及びイヌへの単回静脈内投与（1 及び 0.3 mg/kg）並びに経口投与（1，3，10 mg/kg 及び 0.3，1，3 mg/kg）により検討した。単回静脈内投与したときのギルテリチニブの消失半減期（$t_{1/2}$）は，ラットで 6.93 時間，イヌで 25.4 時間であった。全身クリアランス及び定常状態における分布容積は，ラットでそれぞれ 3.89 L/h/kg 及び 25.7 L/kg，イヌでそれぞれ 1.28 L/h/kg 及び 38.8 L/kg であった。ラット及びイヌに単回経口投与したときの最高血漿中濃度到達時間の平均は，4～6.5 時間であった。ギルテリチニブの血漿中最高濃度（C_{max}）及び血漿中の投与後時間 0 から無限時間まで外挿した濃度－時間曲線下面積（AUC_{inf}）は，ラットでは 1～10 mg/kg の範囲で用量比を上回る割合で上昇し，その傾向は 3～10 mg/kg において顕著であった。イヌでは 0.3～1 mg/kg の範囲でほぼ用量比と同様の割合で増加したが，1～3 mg/kg の範囲で僅かに用量比を上回る割合で上昇した。経口投与後の BA は，ラットでは 1，3

及び10 mg/kg でそれぞれ26.8%, 35.8%及び68.6%, イヌでは0.3, 1 及び3 mg/kg でそれぞれ88.2%, 88.7%及び118.4%であった。

雌雄のラットにギルテリチニブフマル酸塩の2.5～20 mg/kg を1 日1 回13 週間反復経口投与したとき，血漿中ギルテリチニブのC_{max}及び投与後時間0 から24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{24h}）は20 mg/kg までほぼ用量比を上回る割合で上昇した。2.5，5 及び10 mg/kg の反復経口投与14，28，56 及び91 日目のC_{max}及びAUC_{24h}は，投与期間依存的に増加する傾向が認められ, 投与91 日目では投与1 日目の2.3～3.6 倍であった。20 mg/kg 投与群のC_{max}及びAUC_{24h}は投与期間中ほぼ一定であった。トキシコキネティクスパラメータには，概して性差は認められなかった。また，雌雄のイヌにギルテリチニブフマル酸塩の1～5 mg/kg を1 日1 回13 週間反復経口投与したとき，血漿中ギルテリチニブのC_{max}及びAUC_{24h}は僅かに用量比を上回る割合で上昇した。投与7 日目のC_{max}及びAUC_{24h}は，ともに投与1 日目の約2～3 倍であり，7 日目以降のC_{max}及びAUC_{24h}はほぼ一定であった。トキシコキネティクスパラメータに性差は認められなかった。

イヌに^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の1 mg/kg を単回経口投与したとき，血液及び血漿中放射能濃度はそれぞれ投与後6 及び4 時間にC_{max}に達した後，それぞれ45.6 及び51.3 時間の$t_{1/2}$で減少した。血液中放射能のC_{max}及びAUC_{inf}は，それぞれ75.4 ng eq./mL 及び2970 ng eq.·h/mL であった。血漿中放射能のC_{max}及びAUC_{inf}は，それぞれ28.4 ng eq./mL 及び1620 ng eq.·h/mL であった。

2.4.3.3　分布

白色ラットに^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の1 mg/kg を単回経口投与したときの組織内放射能濃度は，大部分の組織で投与後4 時間に最高値を示した。消化管を除く放射能の組織分布は，肝臓で最も高く, 血漿で最も低かった。放射能濃度の消失はいずれの組織においても緩徐であり，血漿，脳，血液及び大腿筋を除いて，投与後72 時間においても放射能が検出された。投与後72 時間ではほとんどの組織で放射能濃度は最高値の10%未満であったが, 精巣では最高値の74.7%, ハーダー腺では70.6%，皮膚では13.5%，下垂体では12.6%であった。全身オートラジオルミノグラフィーの結果は，組織内放射能濃度測定の結果とよく一致していた。

有色ラットに^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の1 mg/kg を単回経口投与したときの組織内放射能濃度は白色ラットの結果と類似していたが, 有色ラットにおける眼球中放射能濃度の最高値は, 白色ラットの値の約30 倍高かった。有色ラットの眼球の放射能濃度は半減期409 日で消失し，投与後270 日に最高値の36.4%（604 ng eq./g）まで低下した。眼球内の放射能を分析したところ，ギルテリチニブのみが検出された。有色ラットの定量的全身オートラジオルミノグラムにおいて, 眼球中の放射能はメラニン高含有の毛様体，網膜及び脈絡膜に分布していた。

白色ラットに^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の1 mg/kg を1 日1 回28 日間反復経口投与したときの組織内放射能濃度は, 大部分の組織において投与21 日目までにほぼ定常状態に達したと考えられた。最終投与後の組織内放射能濃度は，いずれの組織においても投与後4 あるいは8 時間に

最高値を示した後，経時的に減少した。副腎，胸部大動脈，脾臓，甲状腺，心臓，腎臓，精巣，大腿筋，脳，白色脂肪，胸腺，顎下リンパ節，骨髄及び胃における最終投与後 336 時間の放射能濃度は最高値の 10.4%～27.5%であった。その他の組織ではいずれも最高値の 10%未満あるいは検出限界未満であった。

妊娠 14 日目のラットに ^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の 1 mg/kg を単回経口投与したとき，胎盤及び胎児においても放射能が検出され，ギルテリチニブ由来成分が血液－胎盤関門を通過して胎児へ移行することが示された。授乳中の雌ラットに ^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の 1 mg/kg を単回経口投与したとき，乳汁中，哺乳児の組織及び胃内乳汁凝固物においても放射能が検出されたことから，ギルテリチニブ由来成分が乳汁を介して哺乳児の組織に分布すると考えられた。

ギルテリチニブの in vitro 血漿蛋白結合率は，正常マウスで 85.1%～89.6%，薬理学的モデルマウスで 75.4%～84.2%，ラットで 77.7%～79.2%，ウサギで 75.5%～78.7%，イヌで 78.0%～80.7%，カニクイザルで 81.3%～82.4%，ヒトで 90.2%～90.5%であった。In vitro 血漿蛋白結合率は，マウスを除き，設定濃度 0.1～10 μg/mL の範囲でほぼ一定であった。マウスでは，濃度の増加とともに血漿蛋白結合率が低下する傾向が認められた。

ラット及びイヌに ^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の 1 mg/kg を単回経口投与したとき，ラットの投与後 4 及び 8 時間における血漿に対する血液中放射能濃度比（C_b/C_p）は 3.42 及び 3.09 であった。イヌの C_b/C_p 値は，投与後 1～48 時間では 2.1～2.7 であり，投与後 72～168 時間では 0.87～1.6 であった。

2.4.3.4　代謝

マウス，ラット，ウサギ，イヌ，カニクイザル及びヒトの肝ミクロソームあるいは凍結肝細胞におけるギルテリチニブの in vitro 代謝プロファイルには若干の種差が認められたが，ヒトで認められた代謝物は，1 種の微量代謝物を除き，検討したいずれかの動物種で検出された。

^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の 1 mg/kg をラット及びイヌに単回経口投与したとき，血漿の主成分は未変化体であった。尿，胆汁及び糞中には多くの代謝物が認められ，ギルテリチニブは，酸化，*N*-脱アルキル化並びにグルタチオン抱合代謝を受けると考えられた。ヒトで認められた代謝物は，マイナーな 2 種を除き，少なくともラットあるいはイヌのいずれかで認められた。

2.4.3.5　排泄

ラットに ^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の 1 mg/kg を単回経口投与したとき，投与後 168 時間までの尿及び糞中への放射能の累積排泄率は，投与量のそれぞれ 1.4%及び 89.9%であった。イヌに ^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩の 1 mg/kg を単回経口投与したとき，投与後 504 時間までの尿及び糞中への放射能の累積排泄率は，投与量のそれぞれ 9.5%及び 88.1%であった。ラット及びイヌにおいて，投与された放射能は主に糞中に排泄された。胆管カニュレーションを施したラットに ^{14}C-ギルテリチニブフマル酸塩を単回経口投与したときの投与後 48 時間までの胆汁中及び尿中

放射能排泄率は投与量のそれぞれ 29.3%及び 8.6%であり，投与した ^{14}C-ギルテリチニブの 37.9%以上が吸収されると考えられた。また，ラットにおいてはギルテリチニブ由来成分の腸肝循環も認められた。

2.4.4　毒性試験

2.4.4.1　単回投与毒性試験

ラット（投与量 : 100 及び 300 mg/kg）に本薬を単回投与した際の毒性を検討した（2.6.6.2.1 ラット単回経口投与毒性試験）。300 mg/kg 投与群の雌雄ラットが投与日から投与後 1 から 2 日にかけて死亡するか，瀕死屠殺され，ラットにおける概略の致死量は 300 mg/kg と考えられた。死亡あるいは瀕死状態の前には体重減少，自発運動の減少，前房出血，被毛疎（腹部），蒼白，便量減少，黒色便（便潜血反応陽性）及び低体温などが観察された。死亡あるいは瀕死屠殺例の病理組織学的検査では，十二指腸の出血，上皮の空胞化及び炎症細胞浸潤，前眼房の出血，前胃の出血及びびらん，盲腸リンパ濾胞内のリンパ球壊死並びに胸腺のリンパ球壊死及び出血が認められた。

イヌにおける GLP 適合の単回経口投与毒性試験は実施していないが，イヌを用いた 4 週間投与試験において，本薬の急性毒性を評価した（2.6.6.2.2 イヌの急性毒性情報，2.6.6.3.2 イヌ 4 週間経口投与毒性試験）。1000 mg/kg/日の群では，投与開始日の投与後約 1 時間以降のいずれかの時点から，嘔吐，下痢，赤色便（便潜血反応陽性），自発運動の減少，腹臥位，横臥位，刺激に対する反応の減少，接触反応の消失，喘ぎ呼吸及び口腔粘膜の蒼白が認められた。投与 2 日に一般状態が一層悪化したため，2 日間投与の後に，以降の投与を中止したが，7 例中 6 例が投与 2 日（投与開始日の翌日）から投与中止後 4 日までに死亡あるいは瀕死屠殺となった。したがって，イヌにおける概略の致死量は 1000 mg/kg と考えられた。死亡あるいは瀕死屠殺例の剖検及び病理組織学的検査では，出血性の変化を中心とした胃及び腸管の複数の所見が認められた。残り 1 例の臨床症状は休薬期間中に消失し，休薬後 4 週間の剖検及び病理組織学的検査では薬剤性変化は認められなかった。100 mg/kg/日の群では投与開始日の投与後約 1 時間から嘔吐が，投与 2 日から軟便あるいは下痢が認められた。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

ラットにおける 13 週間投与試験（投与量：0，2.5，5，10 及び 20 mg/kg/日）では，2.5 mg/kg/日以上の群でリンパ・造血系，肺，消化管，肝臓，腎臓あるいは眼への影響が認められ，20 mg/kg/日の群で雄 9 例（サテライト群）中 1 例が投与 60 日に，雌 15 例（毒性試験群）中 1 例が投与 47 日に死亡した（2.6.6.3.1 ラット 13 週間経口投与毒性試験）。以下に各所見を示す。

リンパ・造血系：

2.5 mg/kg/日以上の群で白血球数，リンパ球数，γ-グロブリン分画及び脾臓重量の減少，5 mg/kg/日以上の群で赤血球数の増加，平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の減少，脾臓，下顎リンパ節あるいは腸間膜リンパ節における微小肉芽腫並びに下顎リン

パ節，パイエル板あるいは胸腺のリンパ球壊死，10 mg/kg/日以上の群で胸腺重量の減少並びに胸腺あるいは脾臓白脾髄の萎縮，20 mg/kg/日の群で好酸球数，大型非染色細胞数，好塩基球の数及び比率の減少，腸間膜リンパ節中のリンパ濾胞の萎縮並びに胸骨髄及び大腿骨髄における細胞数減少が認められた。また，20 mg/kg/日の群において好中球の数及び比率の増加が認められた。

肺： 10 mg/kg/日以上の群で，肺に泡沫細胞集簇が認められた。電子顕微鏡検査により肺胞マクロファージ内の層板小体が認められ，リン脂質症であることが確認された。

消化管：10 mg/kg/日以上の群で回腸及び盲腸あるいは十二指腸（20 mg/kg/日の群の死亡例のみ）の粘膜上皮に微小空胞化が認められた。

肝臓： 5 mg/kg/日以上の群でアルブミン濃度，アルブミン分画，アルブミン／グロブリン比（albumin/globulin ratio：A/G 比）あるいはトリグリセリドの減少，10 mg/kg/日以上の群でアラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase：ALT）及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（aspartate aminotransferase：AST）の増加, 20 mg/kg/日の群の死亡例の肝臓においてクッパー細胞の肥大及び中間帯空胞化が認められた。

腎臓： 20 mg/kg/日の群で尿中グルコースの陽性率及び尿量の増加，尿 pH の減少，尿潜血反応陽性，クロライドの減少，腎臓重量の増加，メサンギウム基質の増加，尿細管の好塩基性変化及び硝子滴，硝子円柱，腎乳頭部の浮腫性変化並びに髄質尿細管の空胞化が認められた。電子顕微鏡検査により集合管内の層板小体が認められ，髄質尿細管の空胞化の一部はリン脂質症であることが確認された。

眼： 20 mg/kg/日の群で水晶体前嚢の混濁（細隙灯顕微鏡検査），脈絡膜，毛様体，虹彩及び／又は結膜に炎症細胞の浸潤が認められた。

ほか： 2.5 mg/kg/日以上の群で低体重及び体重増加抑制，5 mg/kg/日以上の群で摂餌量の減少が認められ，20 mg/kg/日の群では死亡例が認められた。死亡例では自発運動の減少，低体温，蒼白，緩徐呼吸，流涙，赤色尿及び便量の減少が認められた。自発運動の減少及び便量の減少は生存例でも認められた。死亡例では腎臓に細菌コロニー，好中球浸潤，尿細管の壊死及び化膿性炎症，盲腸に細菌コロニー，心臓の左心房に炎症及び細菌性血栓が認められ，一般状態の悪化による細菌感染が死因と考えられた。

これらの変化は 4 週間の休薬により回復性が認められた。ラットにおける 13 週間投与試験における無毒性量は 2.5 mg/kg/日未満と結論した。

また，開発初期に実施されたラットにおける AS2582215-FM（1 ギルテリチニブ：1 フマル酸）の 1 週間投与試験（投与量：0，1，3，10 及び 30 mg/kg/日）においては，30 mg/kg/日の群で間質性肺炎（軽度）及び両眼網膜の桿状体錐状体層の空胞化（軽微）が認められた（概要表 2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験，4.2.3.2-2(参)）。

イヌにおける 4 週間投与試験（投与量：雄：0，1，10，100 及び 1000 mg/kg/日，雄追加：0，2.5 及び 5 mg/kg/日，雌：0，1，2.5 及び 5 mg/kg/日）では，2.5 mg/kg/日以上の群でリンパ・造血系，

消化管，肝臓，腎臓あるいは眼への影響が認められた（2.6.6.3.2 イヌ 4 週間経口投与毒性試験）。100 mg/kg/日以上の群では，一部の例が死亡あるいは瀕死状態に至ったため，4 日間（100 mg/kg/日）あるいは 2 日間（1000 mg/kg/日）投与の後に投与を中止した。その後，1000 mg/kg/日の群の 2 日間投与後に 4 週間の休薬期間を生存した 1 例を除く計 13 例が投与中止後 6 日までに死亡あるいは瀕死屠殺となった。10 mg/kg/日の群では 1 例が投与 12 日に瀕死屠殺され，残る 3 例は摂餌量の減少を示し，全例とも便潜血反応陽性を示したため，12 日間投与の後に残る 3 例を剖検した。このように，10 mg/kg/日以上の群においては，投与初期に重篤な毒性が認められたため，投与期間は 10 mg/kg/日の群では 12 日，100 mg/kg/日の群では 4 日，1000 mg/kg/日の群では 2 日とした。イヌにおける 13 週間投与試験（投与量：0，1，2.5 及び 5 mg/kg/日）では，2.5 mg/kg/日以上の群で，4 週間投与試験において影響が認められた臓器に加えて新たに肺，膀胱あるいは上皮系組織への影響が認められ，5 mg/kg/日の群では雄 7 例中 1 例が投与 42 日に死亡し，1 例を投与 77 日に瀕死屠殺した（2.6.6.3.3 イヌ 13 週間経口投与毒性試験）。以下に各所見を示す。

リンパ・造血系：

4 週間投与試験の 10 mg/kg/日以上の群及び 13 週間投与試験の 5 mg/kg/日の群の生存例あるいは死亡・瀕死屠殺例において，胸骨髄及び大腿骨髄における細胞数減少（4 週間投与試験は 100 mg/kg/日まで）並びに血小板数，リンパ球の数及び比率，好酸球の数及び比率の減少が認められた。また，13 週間投与試験の 5 mg/kg/日の群の瀕死屠殺例では骨髄中有核細胞数の減少も認められた。4 週間投与試験では 100 mg/kg/日の群で網赤血球比が減少していたが，13 週間投与試験では 5 mg/kg/日の群で赤血球数，ヘモグロビン濃度及び／又はヘマトクリット値の減少が認められたものの，網赤血球比は増加しており，貧血に対する代償性反応が投与期間中に認められた。そのほか，胸腺重量の減少（4 週間投与試験の 5 mg/kg/日），脾臓重量の減少（13 週間投与試験の 5 mg/kg/日），胸腺の萎縮（4 週間投与試験の 2.5 及び 5 mg/kg/日，13 週間投与試験の 5 mg/kg/日），腸間膜リンパ節，下顎リンパ節，胸腺あるいはパイエル板のリンパ球壊死（4 週間投与試験の 2.5 mg/kg/日以上，13 週間投与試験の 5 mg/kg/日，後者は下顎リンパ節のみ），腸間膜リンパ節，脾臓白脾髄及びパイエル板のリンパ球減少（13 週間投与試験の 5 mg/kg/日）並びにパイエル板の泡沫細胞の増加（4 週間投与試験の 5 及び 1000 mg/kg/日）のようにリンパ系組織への影響が認められた。なお，炎症に関連すると考えられる変化がいくつか認められた。すなわち，好中球の数及び比率の増加（4 週間投与試験の 5 mg/kg/日以上），白血球数，単球の数及び比率，好塩基球の数及び比率あるいは大型非染色細胞の数及び比率の増加（4 週間投与試験の 10 mg/kg/日以上），白血球数，好中球の数及び比率，単球数あるいは好塩基球数及び大型非染色細胞数の増加（13 週間投与試験の 2.5 mg/kg/日以上），血小板数及びグロブリン濃度の増加（両試験の 2.5 及び 5 mg/kg/日）並びにアルブミン濃度及びアルブミン分画の減少（両試験の 2.5 mg/kg/日以上）が認められた。

肺： 4 週間投与試験では，10 mg/kg/日以上の群の死亡及び瀕死屠殺例で，肺に泡沫細胞集簇，うっ血，出血，水腫及び好中球浸潤が認められたが，4 週間の投与が完了した 5 mg/kg/日以下の群では肺に病理組織学的な所見は認められなかった。しかしながら，13 週間投与試験では，2.5 mg/kg/日以上の群で肺の病理組織学的所見（水腫，限局性の肺胞出血，限局性の間質線維化，炎症細胞浸潤，肺胞のフィブリン様物質沈着，肺胞上皮の肥大／過形成）が認められた。5 mg/kg/日の群の死亡及び瀕死屠殺例では，鼻出血（瀕死屠殺例のみ），肺重量の増加及び気管支内の細胞残屑も認められた。また，体重及び摂餌量の減少，一般状態悪化が死亡あるいは瀕死状態に先立って認められた。したがって，一般状態の悪化及び肺障害が瀕死及び死亡の原因と考えられた。

消化管： 4 週間投与試験では, 2.5 mg/kg/日以上の群で便潜血反応陽性, 5 mg/kg/日の群で嘔吐，下痢，赤色便，十二指腸で粘膜上皮の肥大及び回腸，結腸及び／又は直腸で杯細胞の肥大及び増加が認められた。致死量の 10 mg/kg/日以上の群では，軟便・下痢，赤色便，肛門周囲の汚れのほか，うっ血（空腸），びらん（食道），潰瘍（十二指腸）あるいは出血（胃，十二指腸，回腸，空腸，盲腸，結腸あるいは直腸）が認められた。13 週間投与試験では，2.5 mg/kg/日以上の群で便潜血反応陽性及び臼歯あるいは切歯の歯槽及び歯肉の炎症が認められた。また，両試験において，2.5 mg/kg/日以上の群でアルカリフォスファターゼ（alkaline phosphatase : ALP）の増加並びにアルブミン濃度及びアルブミン分画の減少も認められたが，これらの所見は，消化管障害あるいは 13 週間投与試験で認められた肝毒性と関連すると考えられた。潜血反応陽性の赤色の便，食道から腸管における消化管の出血性病変と，4 週間投与試験の 10 mg/kg/日以上の群の死亡あるいは瀕死との関連が考えられた。

肝臓： 両試験の 2.5 mg/kg/日以上の群で AST の増加，4 週間投与試験の致死量の 1000 mg/kg/日の群で ALT の増加が認められた。4 週間投与試験では 100 mg/kg/日の群（4 日間投与）の胆嚢粘膜の出血以外に肝臓に病理組織学的所見は認められなかったが，13 週間投与試験では致死量の 5 mg/kg/日の群で肝臓重量の増加，肝臓における肝細胞の空胞化及び萎縮，血管周囲単核細胞浸潤，クッパー細胞におけるヘモジデリン沈着並びに胆嚢の漿膜の限局性出血及び粘膜の肥大／粘液の分泌亢進が認められた。そのほか，肝機能に関連する変化として，いずれかの試験の 2.5 mg/kg/日以上の群で ALP，トリグリセリド，総コレステロールあるいはリン脂質の増加，活性化部分トロンボプラスチン時間の延長，総蛋白の増減あるいはグルコース，アルブミン濃度，アルブミン分画あるいは A/G 比の減少が認められた。また，4 週間投与試験の致死量の 10 mg/kg/日以上の群で，γ-グルタミルトランスフェラーゼ，トリグリセリドあるいはグルコースの増加並びに総コレステロール，リン脂質あるいはグロブリン濃度の減少が認められた。

腎臓： 2.5 mg/kg/日以上の群で無機リン及びカルシウムの減少（4 週間投与試験）が，5 mg/kg/日の群で尿潜血反応陽性率，尿沈渣中赤血球陽性率及び尿中蛋白質濃度の増加が認め

られた（4 及び 13 週間投与試験）。4 週間投与試験の致死量であった 10 mg/kg/日以上の群では，グルコースの減少，尿素窒素及びクレアチニンの増加，血清中電解質の変化，腎臓の単核細胞の浸潤あるいは尿細管の拡張・再生が認められた。13 週間投与試験の 5 mg/kg/日の群では無機リン，カルシウム及びカリウムの減少に加えて，ナトリウムの尿中排泄量増加，尿中グルコース陽性率増加及び血清中グルコース減少，尿素窒素の増加，腎臓重量の増加，腎臓の皮髄境界部尿細管の空胞化，髄質及び腎盂の炎症細胞浸潤，遠位尿細管拡張，尿細管再生，髄質の限局性うっ血が認められた。

膀胱：　13 週間投与試験の 5 mg/kg/日の群で膀胱の移行上皮の空胞化が認められた。

眼：　両試験の 5 mg/kg/日の群で眼底検査にてタペタム領域の視神経乳頭上方に水平方向に帯状に広がる眼底色調異常（暗色）が認められ，13 週間投与試験では病理組織学的検査において網膜の桿状体錐状体層／外顆粒層の空胞化も認められた。光干渉断層計検査では，両試験の 5 mg/kg/日の群で外境界膜と網膜色素上皮の間における局所的に高反射性を示す変化が認められ, 13 週間投与試験では外顆粒層の局所的に高反射性を示す変化及び外顆粒層の局所的な菲薄化も認められた。

上皮系組織：

4 週間投与試験の 100 mg/kg/日の群（4 日間投与）の瀕死屠殺例では，一般状態観察において口腔粘膜の潰瘍が認められた。13 週間投与試験の 2.5 mg/kg/日の群では，一般状態観察において足蹠のびらんが，5 mg/kg/日の群の死亡・瀕死屠殺例の一般状態観察では足蹠あるいは口腔粘膜のびらん及び歯肉潰瘍が認められた。同群の生存例の一般状態観察では，足蹠，口腔粘膜，顔面あるいは後肢皮膚のびらん，顔面皮膚の痂皮並びに頬部及び頸部の腫脹が認められた。病理組織学的検査では，4 週間投与試験の 100 mg/kg/日の群の瀕死屠殺例の口腔粘膜の潰瘍，13 週間投与試験の 5 mg/kg/日の群の瀕死屠殺例，死亡例あるいは生存例において口腔粘膜の棘細胞症あるいは潰瘍／炎症，皮膚の棘細胞症，痂皮あるいは潰瘍／炎症，足蹠の棘細胞症，痂皮あるいは潰瘍／炎症あるいは涙腺の萎縮が認められた。

ほか：　4 週間投与試験の 2.5 mg/kg/日以上の群で体重減少，10 mg/kg/日以上の群では，摂餌量の減少，自発運動の減少，横臥位，腹臥位，刺激に対する反応の減少，接触反応の消失，喘ぎ呼吸あるいは口腔粘膜の蒼白が認められた。13 週間投与試験の 5 mg/kg/日の群では体重及び摂餌量の減少が認められ，死亡・瀕死屠殺例では体温上昇，頻呼吸，自発運動の減少，横臥位，口腔粘膜の蒼白，流涎，刺激に対する反応の減少あるいは接触反応の消失が認められた。

これらの変化のほとんどは 4 週間の休薬により回復性が認められた。イヌにおける 4 及び 13 週間投与試験における無毒性量は 1 mg/kg/日と結論した。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験（15～5000 μg/プレート）（2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験）において，代謝活性化系（S9）の存在下及び非存在下のいずれの条件においても遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。また，ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（0.0988～3.89 μg/mL）（2.6.6.4.2 チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞を用いる染色体異常試験）においても S9 の存在下及び非存在下のいずれの条件においても染色体異常誘発性は認められなかった。しかしながら，マウスを用いた小核試験（投与量：0，20，65 及び 200 mg/kg/日）（2.6.6.4.3 マウス小核試験）において，65 mg/kg/日以上の群で小核を有する多染性赤血球の数が増加した。以上のことから，本薬は生体内で染色体異常誘発性を示すと考えられた。

2.4.4.4　がん原性試験

本薬は進行がん患者の治療を目的としているため，「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン（ICH-S9）」に従い，がん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.5　生殖発生毒性試験

本薬は進行がん患者の治療を目的としているため，ICH-S9 に従い，受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施せず，ラットにおける胚・胎児発生に関する試験を実施した。また，この試験において胚・胎児毒性が認められたため，ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験は実施しなかった。

ラットにおける胚・胎児発生に対する影響に関する試験（投与量：0，0.3，3，10 及び 30 mg/kg/日）（2.6.6.6.2 ラット胚・胎児発生に関する試験）において，30 mg/kg/日の群の母体では体重及び摂餌量の減少が認められた。胎児においては，30 mg/kg/日の群で着床後死亡率の増加，胎児体重減少，胎盤重量減少及び骨化数（胸骨分節，仙尾椎）の減少が認められた。外表異常所見として，全身性浮腫，局所性浮腫，外脳，口唇裂，口蓋裂，短尾及び臍ヘルニアが認められた。内臓異常所見として，小眼球，心房腔拡張，心室腔拡張，心室中隔膜性部欠損，右心室低形成，腎臓欠損，腎臓癒合，異常回転腎，腎臓位置異常，腎臓形態異常，腎臓小型化，副腎位置異常及び卵巣位置異常が認められた。骨格異常所見として，胸骨裂，肋骨欠損，肋骨癒合，頸椎弓癒合，頸椎配列異常及び胸椎欠損が認められた。また，同投与量では内臓及び骨格変異所見が高頻度で認められた。母体及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 10 mg/kg/日と結論した。

2.4.4.6　その他の毒性試験

ギルテリチニブフマル酸塩に含まれる類縁物質である「類縁物質A」*のラットにおける 4 週間経口投与試験（投与量：0，[redacted]，[redacted] 及び[redacted] mg/kg/日）（2.6.6.8.1 ラット 4 週間経口投与毒性試験［不純物の毒性試験］）では，死亡及び瀕死例はなかった。また，いずれの群，いずれの観察，測

*：新薬承認情報提供時に置き換えた。

定及び検査においても毒性学的に意義のある変化は認められなかった。無毒性量は[redacted] mg/kg/日であった。「類縁物質A」*のネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（5～5000 μg/プレート）（2.6.6.8.2 細菌を用いる復帰突然変異試験［不純物の毒性試験］）において，S9 の存在下及び非存在下のいずれの条件においても遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。また，チャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞を用いた染色体異常試験（2～4 μg/mL）（2.6.6.8.3 チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞を用いる染色体異常試験［不純物の毒性試験］）においても S9 の存在下及び非存在下のいずれの条件においても染色体異常誘発性は認められなかった。

Balb/c マウス線維芽細胞（Balb/c 3T3 細胞）を用いた光毒性試験（2.6.6.8.4 マウス線維芽細胞を用いる光毒性試験）では UV-A 照射あり及びなしの条件下での IC_{50} 値から算出された光毒性係数は 1.018 であり，判定基準値（2）未満であった。ギルテリチニブはこの試験の条件下で Balb/c 3T3 細胞に光毒性誘発性を示さないと結論した。

2.4.5　総括及び結論

ギルテリチニブフマル酸塩は，FLT3 キナーゼを阻害し，FLT3 活性化変異を有する細胞の増殖を抑制した。FLT3 活性化変異の一つである FLT3-ITD を発現するヒト AML 細胞株（MV4-11 細胞）を皮下に移植したマウスにおいて腫瘍の増殖を抑制，又は腫瘍を退縮させた。また，同細胞を骨髄に移植したマウスにおいては腫瘍増殖を抑制するとともに延命効果を示した。いずれの試験においてもマウスの体重への影響は認められなかった。これらのことから，本薬は AML 患者に対して治療効果を示す可能性が期待される。

安全性薬理試験において，本薬は呼吸系に対して影響を及ぼさず，中枢神経系に関しては，排尿動物数及び排便動物数の減少が認められたものの，そのほかには中枢神経系への影響を示唆するような一般症状及び行動の変化は認められなかった。ラット 100 mg/kg 投与時の C_{max} の臨床推奨用量（120 mg/日）投与時の C_{max} に対する比は約 1.1 であった。また，最大臨床用量（200 mg/日）との比較では，その比は約 0.5 であった。ラット単回投与試験（2.6.6.2.1 ラット単回経口投与毒性試験）において 100 あるいは 300 mg/kg（致死量）で中枢神経系への明らかな影響を示唆する一般症状及び行動の変化は認められなかった。これらのことから，本薬の臨床での使用にあたって中枢神経系への影響が問題となる可能性は低いと考えられた。心血管系に関しては，本薬は hERG チャネルを介するカリウム電流に対する抑制作用を有するものの，IC_{50} 値と臨床推奨用量（120 mg/日）投与時の最高非結合型濃度との間に約 133 倍の乖離があり，最大臨床用量（200 mg/日）との比較では，その倍率は約 62 倍であった。したがって，臨床推奨用量（120 mg/日）において心電図変化をもたらす可能性は低いものと考えられた。なお，心血管系に対するフォローアップ試験として実施された試験では，本薬は hERG trafficking に影響を及ぼさなかった。また，本薬は $Ca_V1.2$ 及び $K_V7.1$/minK を介した電流を増加させたが，これらは各々，補正した QT 間隔の延長及び短縮につながる可能性がある［Shah, 2010］，相反する事象であった。さらに参考情報であるが，本薬はヒトの心室プルキンエ線維標本の RMP，Amax，APD_{30}，APD_{50}，APD_{90}，第 3 相における三角形化及び STV のいずれのパラメータにも影響を及ぼさなかった。無麻酔イヌの心血管系

*：新薬承認情報提供時に置き換えた。

及び呼吸系試験において，本薬は 100 mg/kg においても体温，血圧，心拍数，心電図，呼吸数及び血液ガスへの影響を示さなかった。本試験で C_{max} が最も高かったのは 30 mg/kg 投与時であり，臨床推奨用量（120 mg/日）における C_{max} の約 0.4 倍であった。しかしながら，イヌの 4 週間（2.6.6.3.2 イヌ 4 週間経口投与毒性試験）及び 13 週間（2.6.6.3.3 イヌ 13 週間経口投与毒性試験）反復投与毒性試験では，5 mg/kg は各々最大耐量及び致死量であったが，この投与量まで心電図への影響は認められなかった。

ラット及びイヌにおけるギルテリチニブフマル酸塩の体内動態の特徴として，経口投与後に比較的速やか，かつ良好に吸収され，吸収された薬物由来成分は広く全身の組織に分布することが挙げられる。ギルテリチニブは主に酸化，*N*-脱アルキル化及びグルタチオン抱合を介した代謝を受けると考えられた。ラット及びイヌにおける主排泄経路はギルテリチニブあるいは代謝物の胆汁中排泄を介した糞中排泄と推察された。ラットにおいては腸肝循環も認められた。また，妊娠ラットにおける胎盤を通過し胎児へ移行すること，授乳中のラットの乳汁中へ移行することが示された。

ラットでの 13 週間反復投与毒性試験では，ギルテリチニブの薬理作用である FLT3 チロシンキナーゼ活性阻害作用に起因すると考えられる影響がリンパ・免疫系に認められ，無毒性量は得られなかった。このほか，ラット及びイヌにおいて肺，消化管，肝臓，腎臓及び眼への影響，イヌにおいて膀胱及び上皮系組織（粘膜，皮膚及び涙腺）への種々の影響が認められ，ラットにおいて肺及び腎臓ではリン脂質症も確認された。これらの影響は可逆性変化であると考えられたが，最小毒性発現用量投与時の曝露量は臨床推奨用量（120 mg/日）投薬時の曝露量を下回っていた。したがって，臨床使用においては慎重に副作用をモニターする必要があると考えられた。また，本薬のがん原性試験は実施していないが，in vivo 小核試験で染色体異常誘発作用が認められている。さらに，本薬には胚・胎児致死作用，胎児発育抑制作用及び催奇形性が認められた。本薬には光毒性の懸念はなかった。以上のことから，臨床使用においてはリスク及びベネフィットのバランスを慎重に検討し，慎重に副作用をモニターしつつ使用する必要があると考えられた。

2.4.6　参考文献一覧

American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2014. [Internet]. Atlanta: American Cancer Society; 2014 [cited 2015 Jan]. Available from:http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/webcontent/acspc-042151.pdf.

Birg F, Courcoul M, Rosnet O, Bardin F, Pébusque MJ, Marchetto S, et al. Expression of the FMS/KIT-like geneFLT3 in human acute leukemias of the myeloid and lymphoid lineages. Blood 1992;80:2584-93.

Gale RE, Green C, Allen C, Mead AJ, Burnett AK, Hills RK, et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. Blood. 2008;111:2776-84.

Kantar Health.TREATMENT ARCHITECTURE: JAPAN LEUKEMIA, ACUTE MYELOID. CancerMPact®Japan 2015, February 2016. (Synix 社より使用許諾済み)

Moreno I, Martín G, Bolufer P, Barragán E, Rueda E, Román J, et al. Incidence and prognostic value of FLT3 internal tandem duplication and D835 mutations in acute myeloid leukemia. Haematologica. 2003;88:19-24.

Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. N Eng J Med. 2012;366:1079-89.

Schlenk RF, Döhner K. Impact of new prognostic markers in treatment decisions in acute myeloid leukemia. Curr Opin Hematol. 2009;16:98-104.

Shah RR. Drug-induced QT interval shortening: potential harbinger of proarrhythmia and regulatory perspectives. Br J Pharmacol. 2010;159:58-69.

Tallman MS. New strategies for the treatment of acute myeloid leukemia including antibodies and other novel agents. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2005:143-50.

Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. Blood. 2001;97:2434-9.

Yanada M, Matsuo K, Suzuki T, Kiyoi H, Naoe T. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a meta-analysis. Leukemia. 2005;19:1345-9.